

Κεφ. 17B

ΕΙΣΑΓΩΓΗ ΣΤΙΣ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΚΕΣ ΤΕΧΝΙΚΕΣ ΑΝΑΛΥΣΕΩΣ

Αποτελεσματικότητα Στήλης (1)

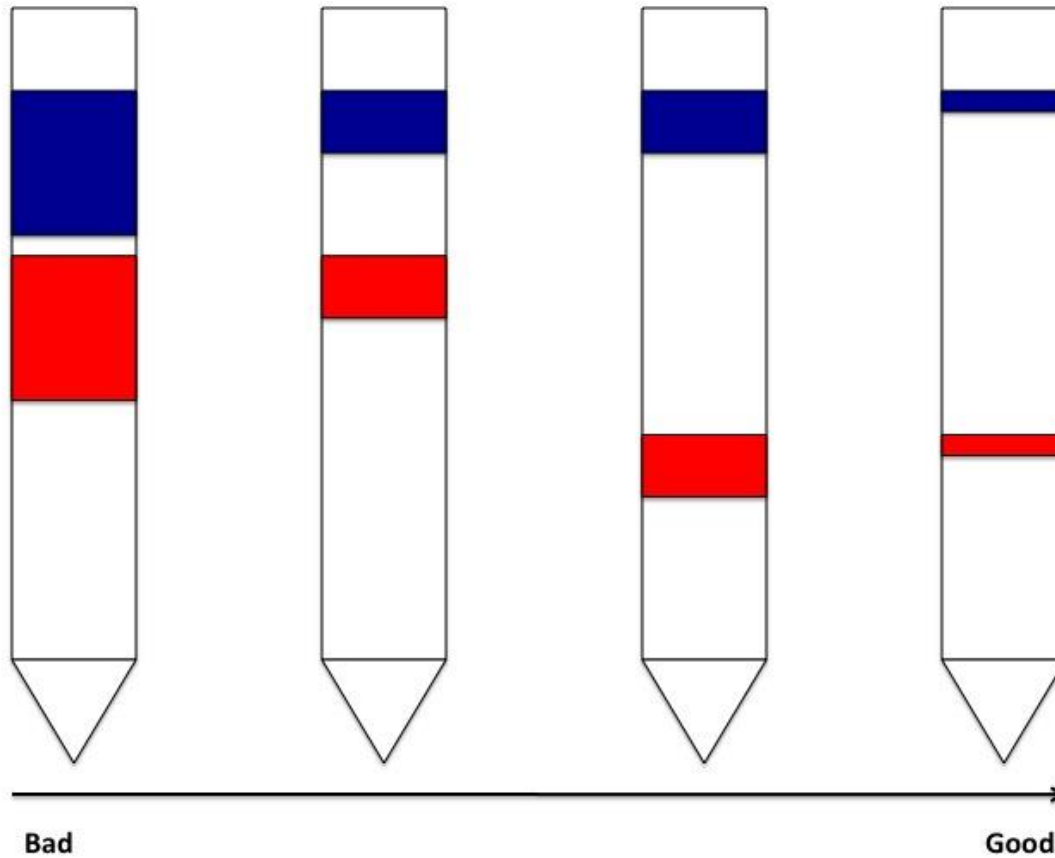
- Κατά τη διάρκεια εκλούσεως συμβαίνουν δύο διαδικασίες:
 1. Τα συστατικά μείγματος μετακινούνται στη στήλη με διαφορετικές ταχύτητες (διαδικασία που προκαλεί διαχωρισμό)
 2. Τα μόρια κάθε συστατικού διασπείρονται, από μια πολύ λεπτή αρχική ζώνη σε μια πολύ ευρύτερη ζώνη, καθώς εξέρχονται από τη στήλη (διεύρυνση κορυφής (ή ταινίας ή ζώνης) (διαδικασία που τείνει να κρατήσει τα συστατικά αναμειγμένα)

Αποτελεσματικότητα Στήλης (2)

- Για να επιτευχθεί διαχωρισμός οι ζώνες συστατικών πρέπει να μετακινούνται χωριστά ταχύτερα απ' ό,τι διαπλάτύνονται
- Μια στήλη είναι τόσο αποτελεσματικότερη, όσο μικρότερη διαπλάτυνση κορυφής προκαλεί για δεδομένο όγκο συγκράτησης

Αποτελεσματικότητα Στήλης (3)

Παράλληλες Διαδικασίες διαχωρισμού και ανάμειξης



Θεωρίες Χρωματογραφίας

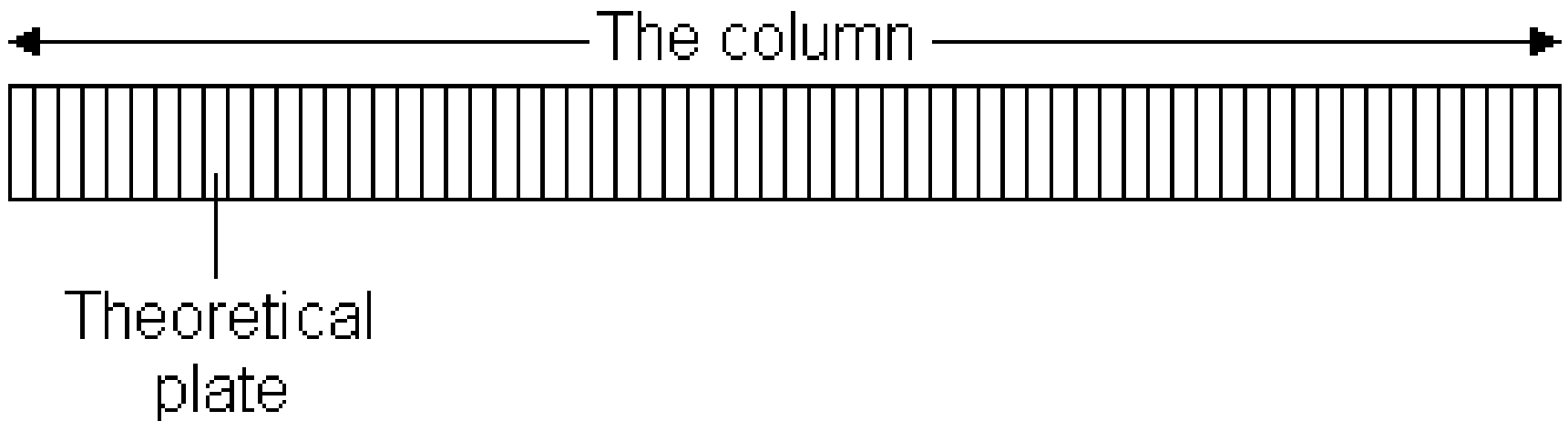
Θεωρία Πλακών (1)

- Πρώτη θεωρία διατυπώθηκε από Martin και Synge (1940) [βραβείο Nobel Χημείας 1952]
- Συνδύαζε διεύρυνση κορυφής με τη μετακίνηση συστατικών στη στήλη και ονομάσθηκε **θεωρία πλακών**
- Κίνηση μιας ουσίας A μέσα από τη χρωματογραφική στήλη μπορεί να θεωρηθεί ως **μετακίνηση μέσω διαδοχικών θαλάμων** (ζωνών) εξισορρόπησης, που ονομάζονται **θεωρητικές πλάκες**

Θεωρίες Χρωματογραφίας

Θεωρία Πλακών (2)

- Μια θεωρητική πλάκα είναι ο απαιτούμενος όγκος στήλης, ώστε σε αυτόν να αποκαθίσταται ισορροπία μεταξύ στατικής και κινητής φάσης
- Η ισορροπία περιγράφεται από το λόγο κατανομής (μερισμού)
- Οι θάλαμοι εξισορρόπησης δεν έχουν σαφή όρια μεταξύ τους και η **θεωρητική πλάκα είναι μια φανταστική έννοια**



Θεωρία πλακών (3)

- Αποτελεσματικότητα στήλης χαρακτηρίζεται από τη «**λεπτότητα**» μιας θεωρητικής πλάκας ή το **ύψος ισοδύναμο με μια θεωρητική πλάκα (ΥΙΘΠ)**
- Το μήκος της στήλης που αντιστοιχεί σε μία θεωρητική πλάκα είναι:
(εάν n = αριθμός θεωρητικών πλακών)

$$\text{ΥΙΘΠ} = h = \frac{L}{n}$$

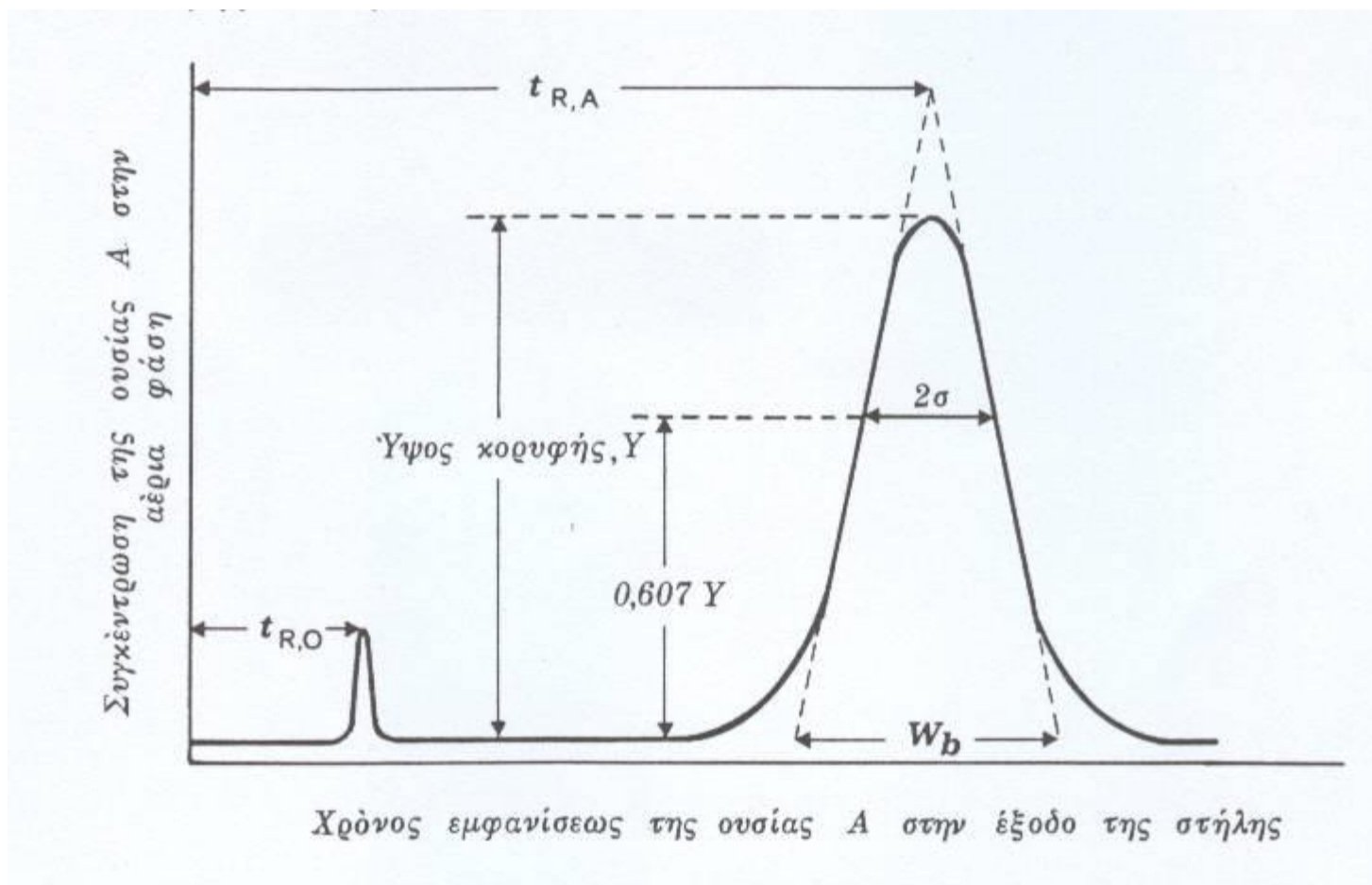
Θεωρία πλακών (4)

- Προϋποθέσεις θεωρίας πλακών (ιδανικές συνθήκες):
 - Συντελεστής κατανομής (μερισμού) K είναι ανεξάρτητος από συγκέντρωση
 - Ισορροπία μεταξύ δύο φάσεων αποκαθίσταται ταχύτατα
 - Ταχύτητα διάχυσης μέσα σε μία φάση κατά μήκος της στήλης είναι αμελητέα

Θεωρία πλακών (5)

- Υπό ιδανικές συνθήκες, η συγκέντρωση ουσίας A στην κινητή φάση κατά μήκος στήλης ακολουθεί κανονική κατανομή κατά Gauss
- Σε γραμμική έκλυση (σταθερή ταχύτητα κινήσεως κινητής φάσης) θα παρέχεται χρωματογραφική κορυφή με κατανομή κατά Gauss

Χρωματογράφημα και διάγραμμα συγκεντρώσεων ουσιών A και O (αδρανής) κατά σειρά εξόδου από τη στήλη



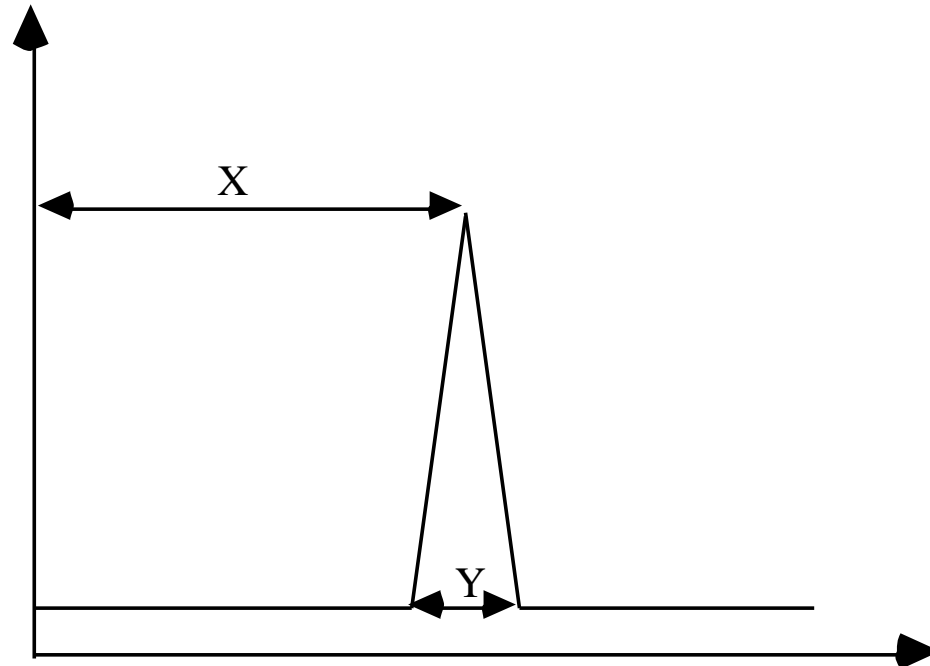
Υπολογισμός αριθμού θεωρητικών πλακών για ουσία A από παραμέτρους της χρωματογραφικής κορυφής

$$n = 16 \left(\frac{t_{R,A}}{w_b} \right)^2 = 16 \left(\frac{V_{R,A}}{w_b} \right)^2$$

$$n = 5,54 \left(\frac{t_{R,A}}{w_{1/2}} \right)^2 = 5,54 \left(\frac{V_{R,A}}{w_{1/2}} \right)^2$$

- w_b : εύρος κορυφής (απόσταση μεταξύ σημείων τομής γραμμής βάσεως και εφαπτομένων στα σημεία καμπής των πλευρών της κορυφής)
- $w_{1/2}$: εύρος κορυφής στο ήμισυ του ύψους της Y
- Αριθμός θεωρητικών πλακών καθαρός αριθμός
- ΥΙΘΠ (h) έχει μονάδες μήκους
- $t_{R,A}$ ($V_{R,A}$) και w_b έχουν ίδιες μονάδες, π.χ. cm, mm, min, s

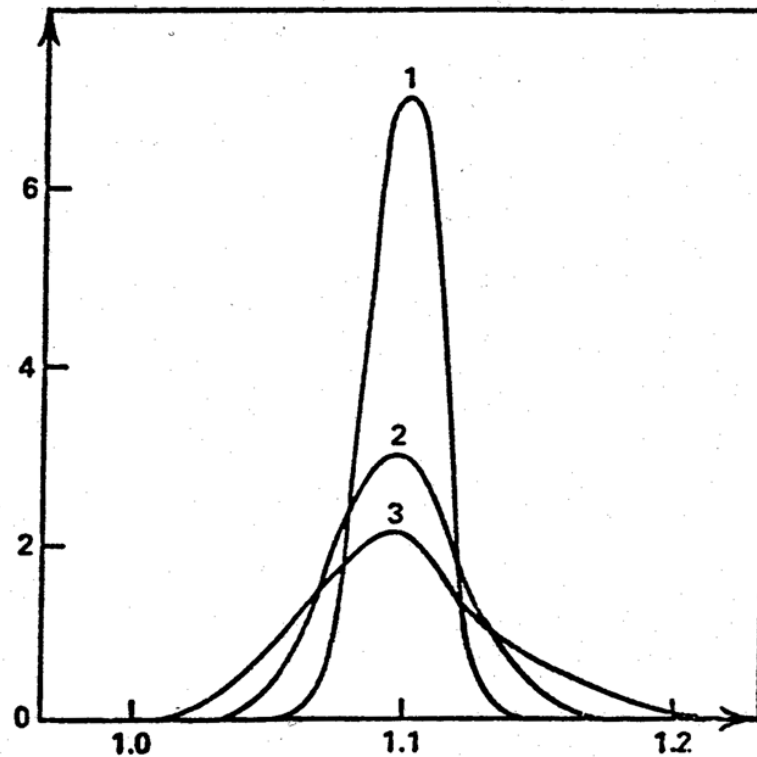
Προσδιορισμός χρόνου ανάσχεσης $t_R (X)$ και
εύρους $w_b (Y)$ για υπολογισμό αριθμού
θεωρητικών πλακών



Επίδραση αριθμού θεωρητικών πλακών στη διεύρυνση κορυφής

1. Μέγιστος αριθμός n , 3. Ελάχιστος αριθμός n

THE IMPORTANCE OF THEORETICAL PLATES (N)



Σημασία αριθμού θεωρητικών πλακών

- Όσο μεγαλύτερος ο αριθμός n :
 - Τόσο στενότερες οι κορυφές
 - Τόσο αποτελεσματικότερη η στήλη κατά το διαχωρισμό μείγματος ουσιών με παραπλήσιους χρόνους (όγκους) συγκρατήσεως

- Εφόσον κορυφή έχει μορφή Gauss, ισχύει:

$$w_b = 4 \sigma$$

Όπου σ = τυπική απόκλιση κατανομής της κορυφής, ίση με το **εύρος** της κορυφής σε ύψος ίσο με $Y/\sqrt{e} = 0,607Y$

Φυσική σημασία αριθμού θεωρητικών πλακών

$$n = \frac{t_{R,A}^2}{\sigma^2} = \frac{V_{R,A}^2}{\sigma^2}$$

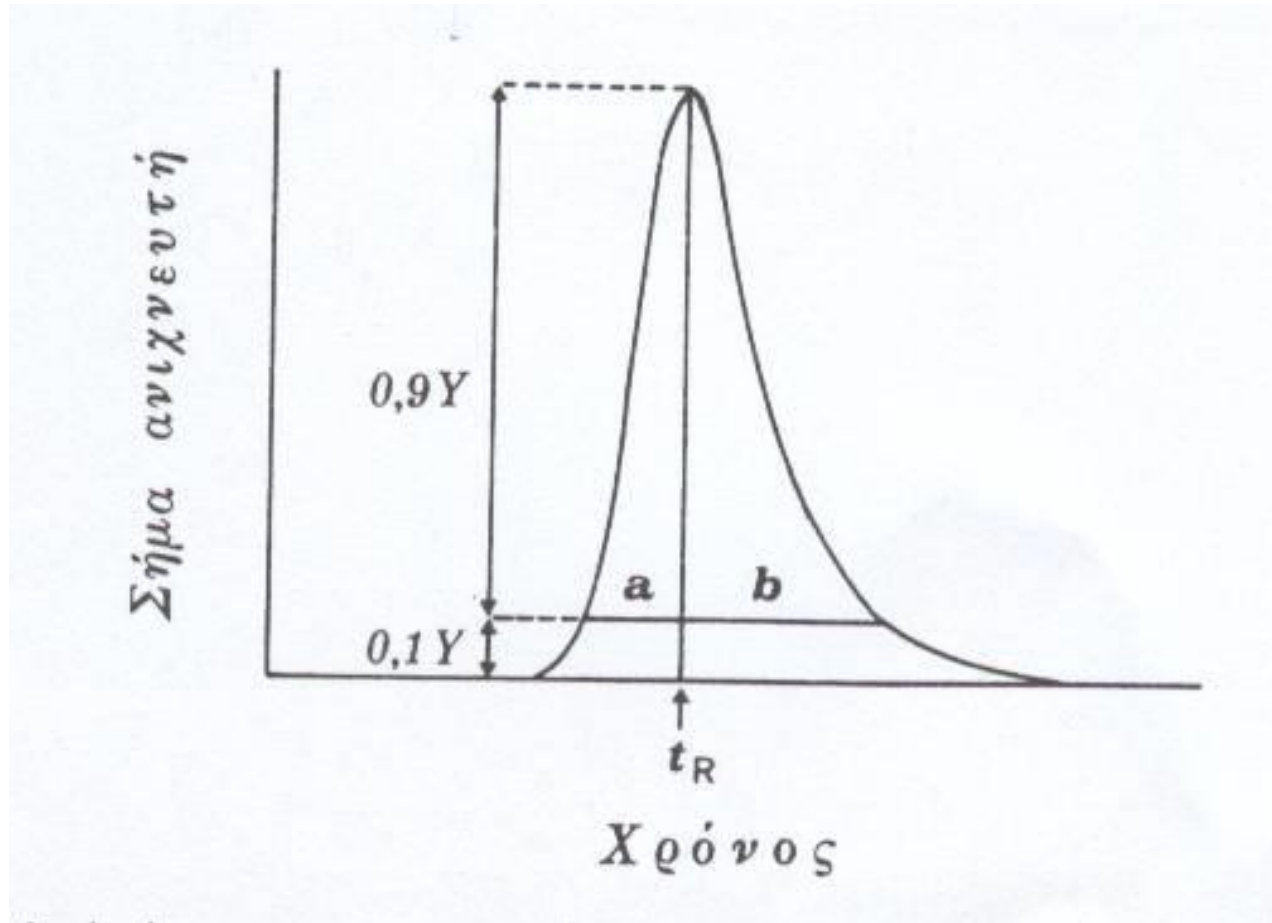
- Επειδή η θεωρητική πλάκα είναι φανταστική έννοια, η ανωτέρω σχέση ορίζει τη φυσική σημασία μιας θεωρητικής πλάκας
- Συνήθως οι χρωματογραφικές στήλες συμπεριφέρονται ως να έχουν διαφορετικό αριθμό θεωρητικών πλακών για τις διάφορες ουσίες ενός μείγματος

Αριθμός θεωρητικών πλακών σε ασύμμετρες κορυφές

- $W_{0,1}$: εύρος κορυφής σε ύψος $0,1Y$, ίσο με $a+b$
- Για ακριβέστερο προσδιορισμό n από ένα πραγματικό χρωματογράφημα, επιλέγεται μια κορυφή με παράγοντα χωρητικότητας $k' > 5$

$$n = 41,7 \frac{\left(\frac{t_{R,A}}{W_{0,1}} \right)}{\frac{a}{b} + 1,25}$$

Ασύμμετρη χρωματογραφική κορυφή με παραμέτρους για υπολογισμό αριθμού θεωρητικών πλακών



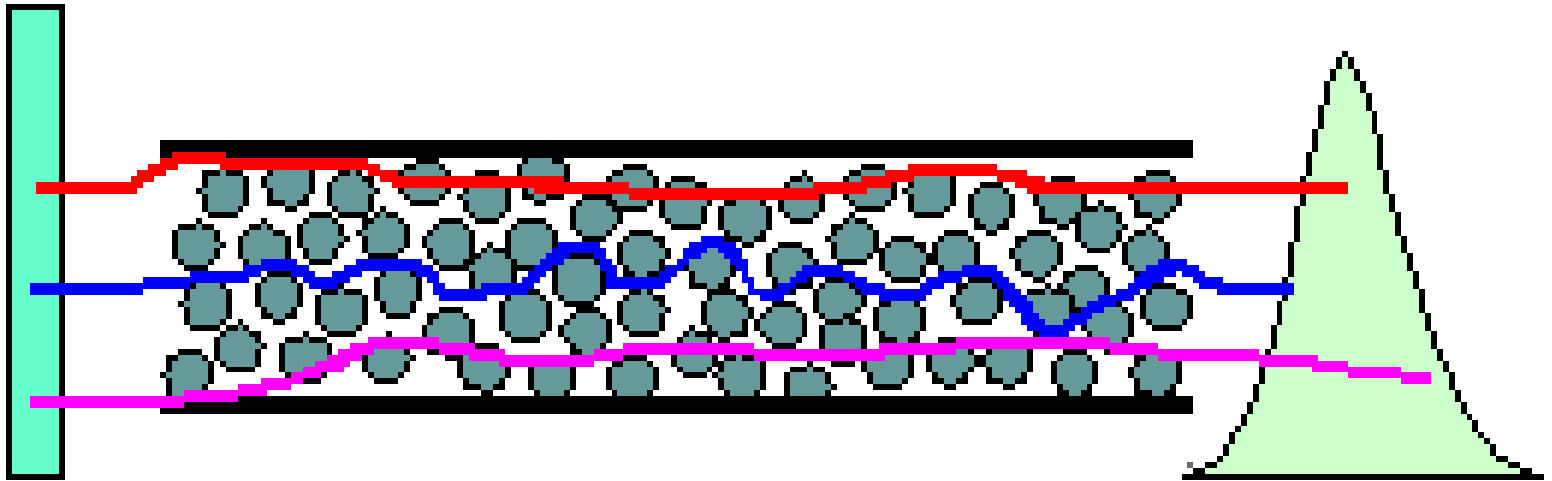
Διεύρυνση κορυφών – Θεωρία ταχύτητας (1)

- Θεωρία πλακών δεν επεξηγεί την επίδραση:
 - Ταχύτητας ροής κινητής φάσης
 - Διαφόρων χαρακτηριστικών στήληςστο εύρος κορυφής (διεύρυνση κορυφής, αύξηση w_b), και στις παραμέτρους n και h
- Δεν επιτρέπει το θεωρητικό υπολογισμό n και h , από τα χαρακτηριστικά των δύο φάσεων

Διεύρυνση κορυφών – Θεωρία ταχύτητας (2)

- Αναπτύχθηκε η θεωρία ταχύτητας
 - Εξετάζει τη χρωματογραφική διεργασία σε πραγματικές μη ιδανικές συνθήκες
 - Διατηρούνται οι παράμετροι n και h , χωρίς φυσική σημασία, μόνο ως κριτήρια αποτελεσματικότητας

Διεύρυνση κορυφής ουσίας λόγω της διαδρομής μέσω της στήλης



Θεωρία ταχύτητας (1)

- Επίδραση ταχύτητας κινητής φάσης u στις παραμέτρους h και n περιγράφεται από την **εξίσωση van Deemter**, που προτάθηκε για την αεριοχρωματογραφία με πληρωμένες στήλες, έχει όμως εφαρμογή και σε άλλες τεχνικές με τροποποιημένη μορφή
- Εάν A , B και C σταθερές, χαρακτηριστικές για ορισμένη στήλη, εξαρτώμενες από φύση στατικής και κινητής (αέριας) κινητής φάσης και από το υλικό και τρόπο πλήρωσης της στήλης, η σύντομη μορφή της εξίσωσης:

$$h = A + \frac{B}{u} + C u$$

Διερεύνηση Εξισώσεως van Deemter (1)

Πρώτος όρος A

- Αντιπροσωπεύει τη **στροβιλώδη διάχυση**, πρακτικά ανεξάρτητος από ταχύτητα u
- Αποτελεί **μέτρο διεύρυνσης κορυφής**, λόγω **ανομοιομορφίας** μεγέθους και σχήματος σωματιδίων πληρωτικού υλικού
- Όσο μικρότερη διάμετρος σωματιδίων, τόσο μικρότεροι οι όροι A και h, και τόσο αποτελεσματικότερη η στήλη

Διερεύνηση Εξισώσεως van Deemter (2)

Πρώτος όρος A

- Υπερβολική μείωση διαμέτρου αυξάνει υπέρμετρα το χρόνο συγκράτησης και ανάλυσης
- Κατά την πλήρωση της στήλης πρέπει να αποφεύγεται ο σχηματισμός ανοικτών διαύλων και λιμναζόντων χώρων

Van Deemter Equation

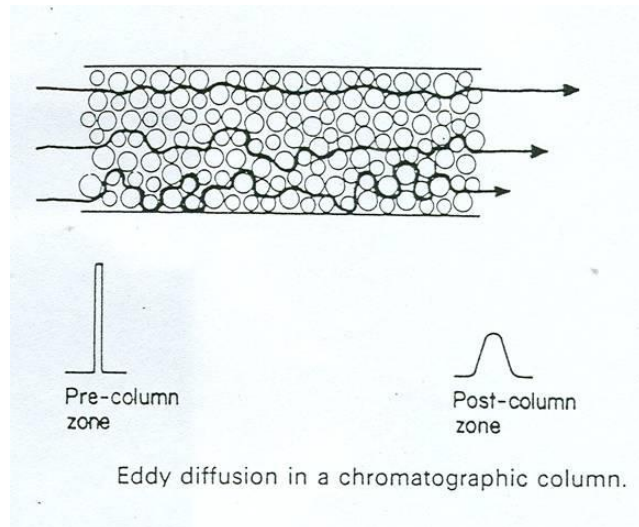
A term

‘Multipath Effect’

$$A \propto C_e d_p$$

C_e = particle shape

d_p = diameter of particle



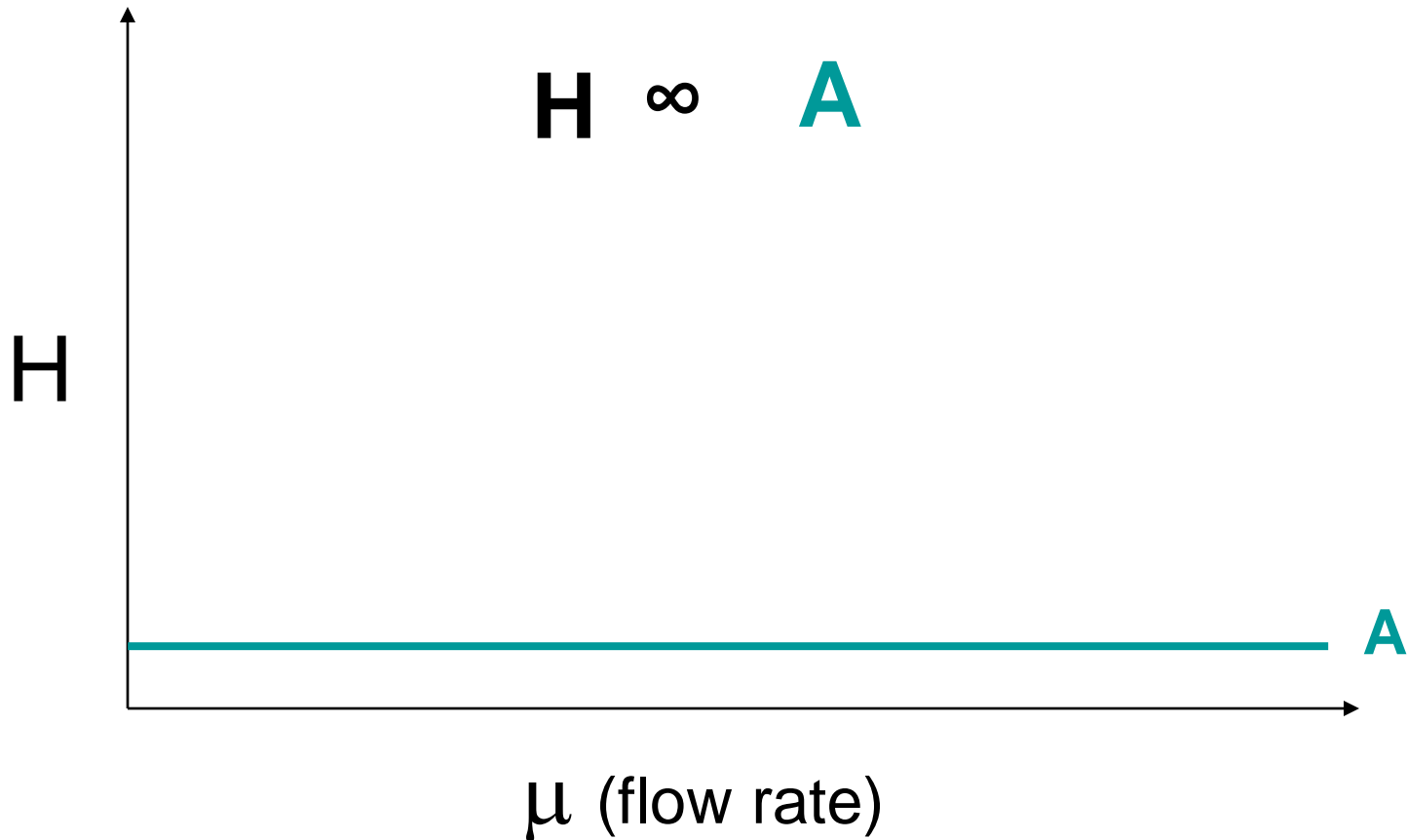
A term

- Entirely dependent on column
- Only important in LC

Van Deemter Equation

A term

'Multipath Effect'



Διερεύνηση Εξισώσεως van Deemter (3)

Δεύτερος όρος B/u

- Σχετίζεται με **διαμήκη διάχυση** ουσίας στην κινητή φάση
- Διάχυση μεγαλύτερη στα αέρια απ' ό,τι στα υγρά
- Ταχύτητα διάχυσης εξαρτάται από συντελεστή διάχυσης, που επηρεάζεται από:
 - Ιξώδες διαλύτη
 - Θερμοκρασία
- Διαμήκης διάχυση αυξάνεται με το χρόνο
- Διεύρυνση κορυφής αυξάνεται με μείωση της ταχύτητας u

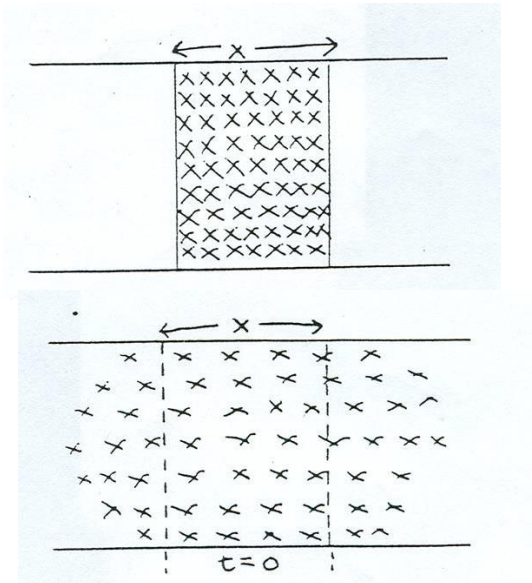
Van Deemter Equation

B term

‘Longitudinal diffusion’

$$B \propto \frac{D_{MP}}{\mu}$$

D_{MP} = diffusivity of mobile phase



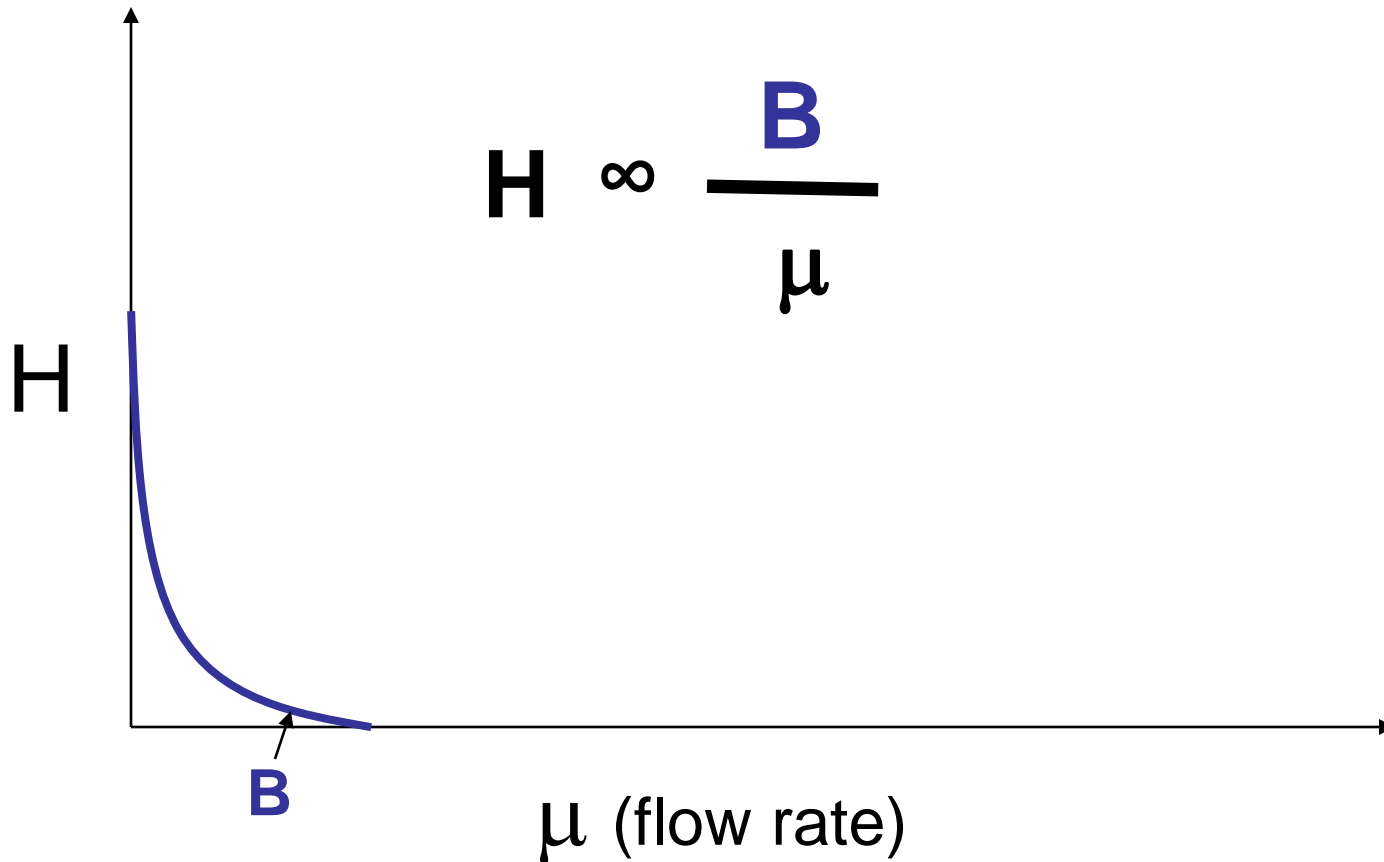
B term

- Inversely proportional to flow rate (fast)
- Only important in GC ($\uparrow D_{MP}$ of a gas)
 - Typical LC flow rate 0.2-0.5 mL/min
 - Typical GC flow rate 1-2 mL/min

Van Deemter Equation

B term

'Longitudinal diffusion'



Διερεύνηση Εξισώσεως van Deemter (4)

Τρίτος όρος Cu

- Σχετίζεται με **αντίσταση μεταφοράς μάζας** στη στήλη
 - Εμποδίζει την ακαριαία αποκατάσταση ισορροπίας μεταξύ δύο φάσεων
- Σχετίζεται με **εγκάρσια διάχυση** μέσα στην κινητή φάση, από ένα θάλαμο στον άλλο

Διερεύνηση Εξισώσεως van Deemter (5)

Τρίτος όρος Cu

- Διεύρυνση κορυφής λόγω αυτής της αιτίας μειώνεται με οτιδήποτε αυξάνει την αποκατάσταση ισορροπίας
 - Αύξηση θερμοκρασίας
 - Χαμηλό ιξώδες διαλυτών
 - Αύξηση επιφάνειας επαφής ανά μονάδα όγκου φάσεως (μείωση πάχους στιβάδας (υμενίου) υγρής φάσης)
- Διαπλάτυνση λόγω μεταφοράς μάζας αυξάνεται με αύξηση ταχύτητας ροής κινητής φάσης

Van Deemter Equation

C term

'Mass transfer'

GC **C** \propto $\frac{d_t^2}{D_{MP}}$ μ

d_t = diameter of tube
 D_{MP} = diffusivity of MP

LC **C** \propto $\frac{d_p^2 \gamma}{D_{MP}}$ μ

d_p = diameter of particles
 D_{MP} = diffusivity of MP
 γ = tortuosity

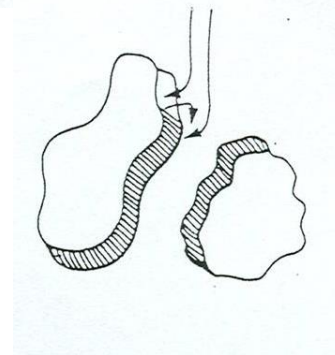
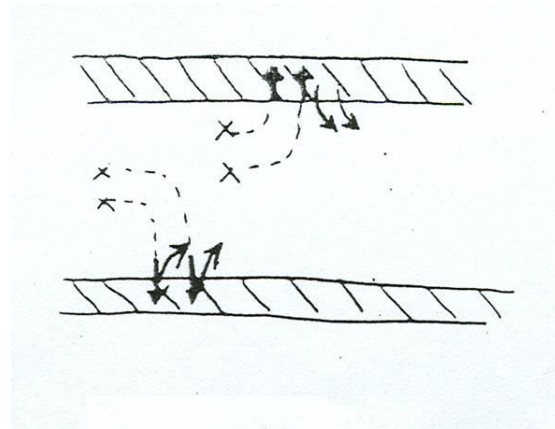
Van Deemter Equation

C term

'Mass transfer'

GC $C \propto \frac{d_t^2}{D_{MP}} \mu$

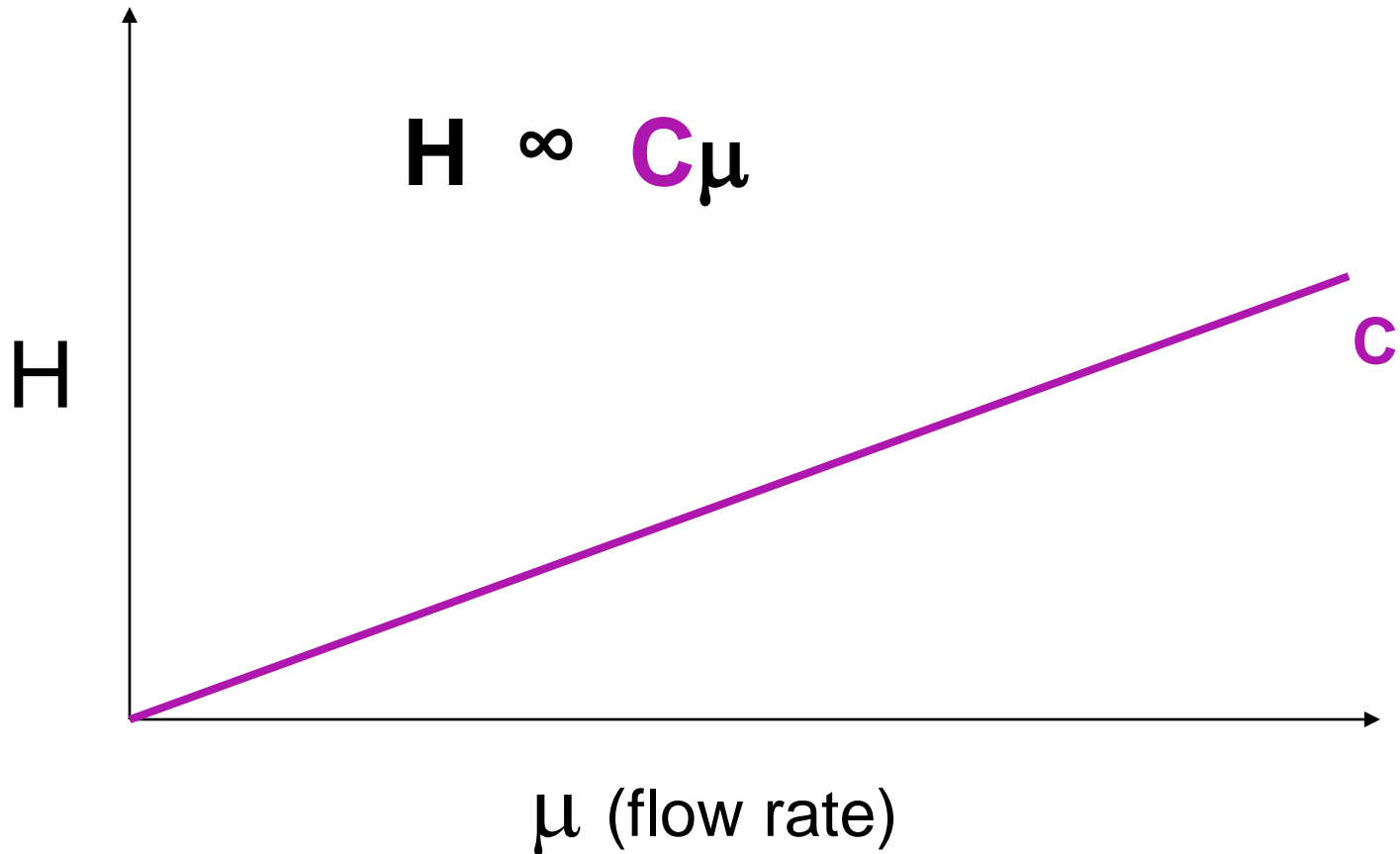
LC $C \propto \frac{d_p^2 \gamma}{D_{MP}} \mu$



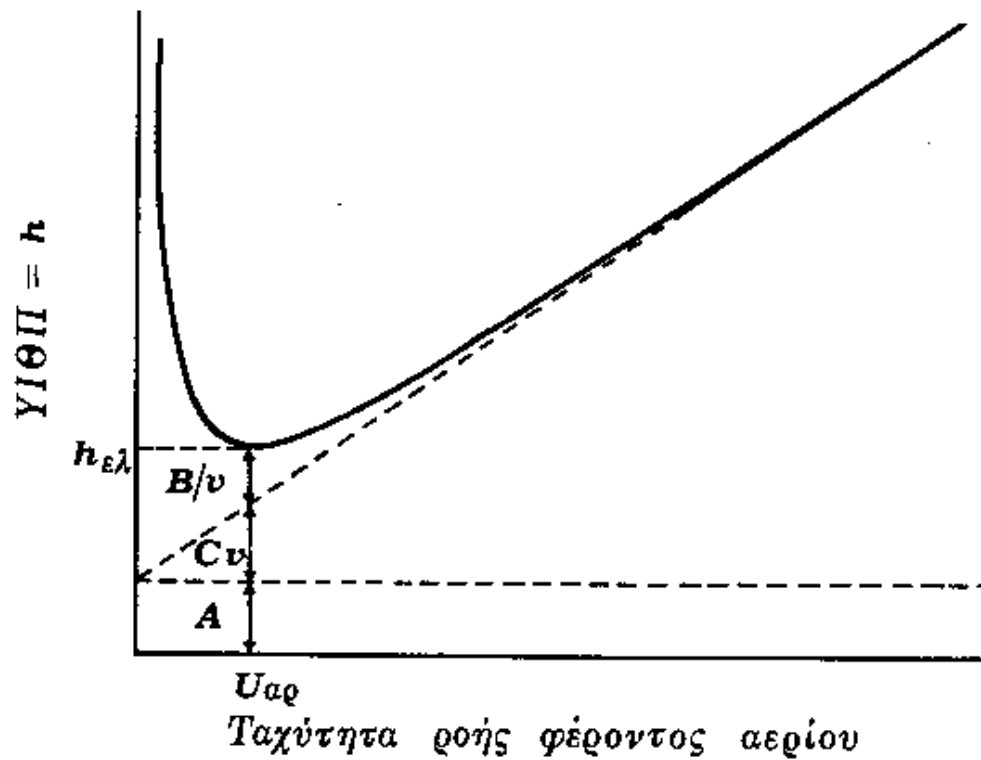
Van Deemter Equation

C term

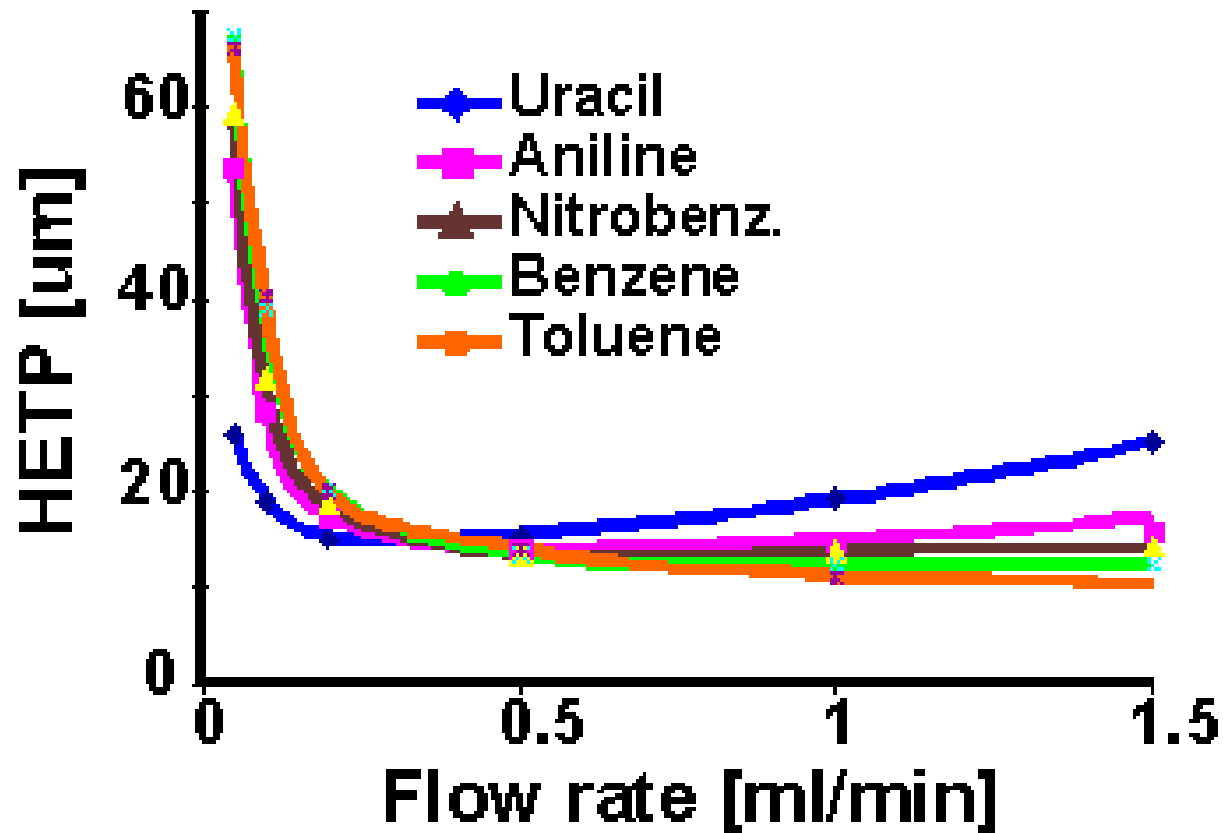
'Mass transfer'



Γραφική παράσταση εξίσωσης van Deemter για αεριοχρωματογραφία



Σχηματικό διάγραμμα εξισώσεως van Deemter για διάφορες ουσίες



Διερεύνηση Εξισώσεως van Deemter (1)

- Τιμή h και διεύρυνση κορυφής στις **μικρές ταχύτητες** ροής φέροντος αερίου καθορίζονται κυρίως από **διαμήκη διάχυση**
- Στις **μεγάλες ταχύτητες** από **αντίσταση μεταφοράς μάζας**
- Υπάρχει μια άριστη τιμή ταχύτητας $u_{αρ}$, που αντιστοιχεί σε μια ελάχιστη τιμή ΥΙΘΠ $h_{ελ}$, όπου μεγιστοποιείται η παράμετρος n

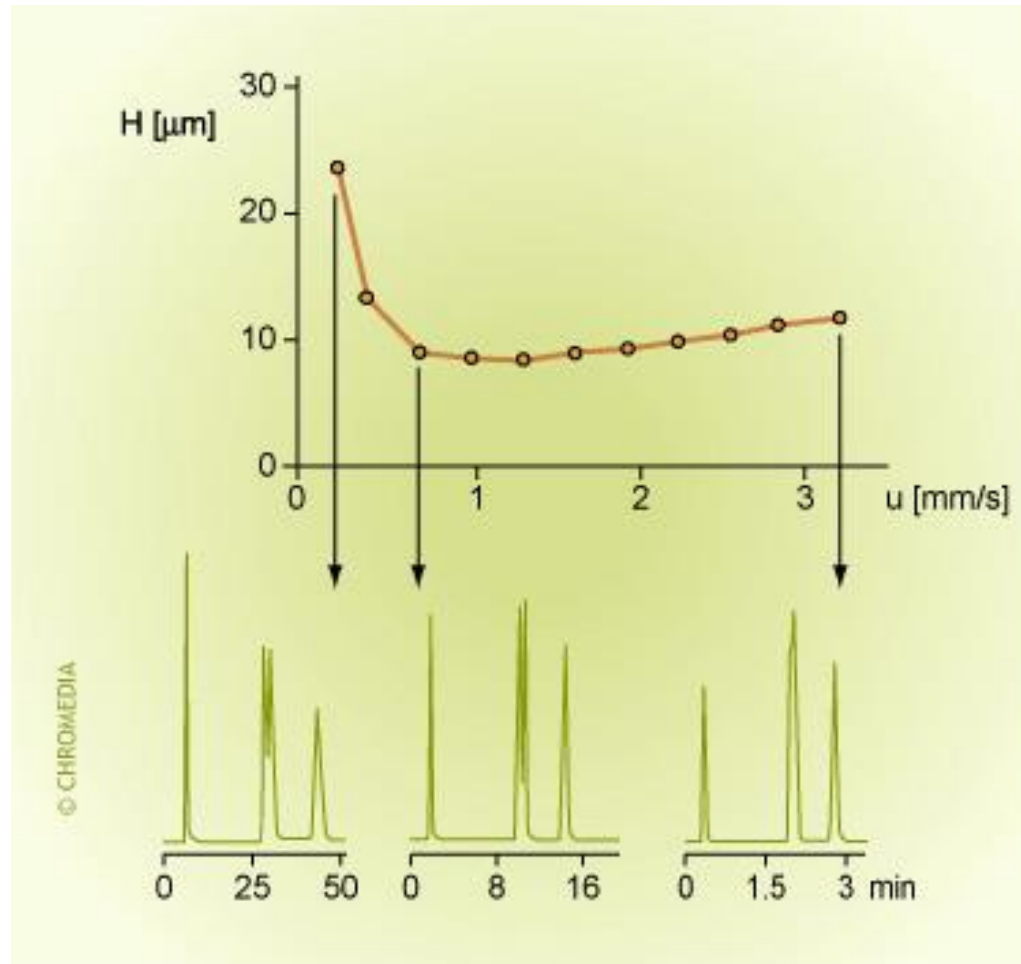
$$u_{αρ} = \sqrt{\frac{B}{C}}$$

$$h_{ελ} = A + 2\sqrt{BC}$$

Διερεύνηση Εξισώσεως van Deemter (2)

- Στην πράξη χρησιμοποιούνται ταχύτητες μεγαλύτερες από $u_{\alpha\rho}$ για μείωση του χρόνου ανάλυσης
- Επειδή οι συντελεστές διάχυσης αερίων είναι πολύ μεγαλύτεροι των υγρών, η $u_{\alpha\rho}$ στην αεριοχρωματογραφία είναι μεγαλύτερη από ό,τι στην υγροχρωματογραφία (αύξηση όρου B εξισώσεως)
- Είναι δυνατός ο προσδιορισμός των παραμέτρων A, B, C είτε γραφικά, είτε με μη γραμμική προσαρμογή ελαχίστων τετραγώνων

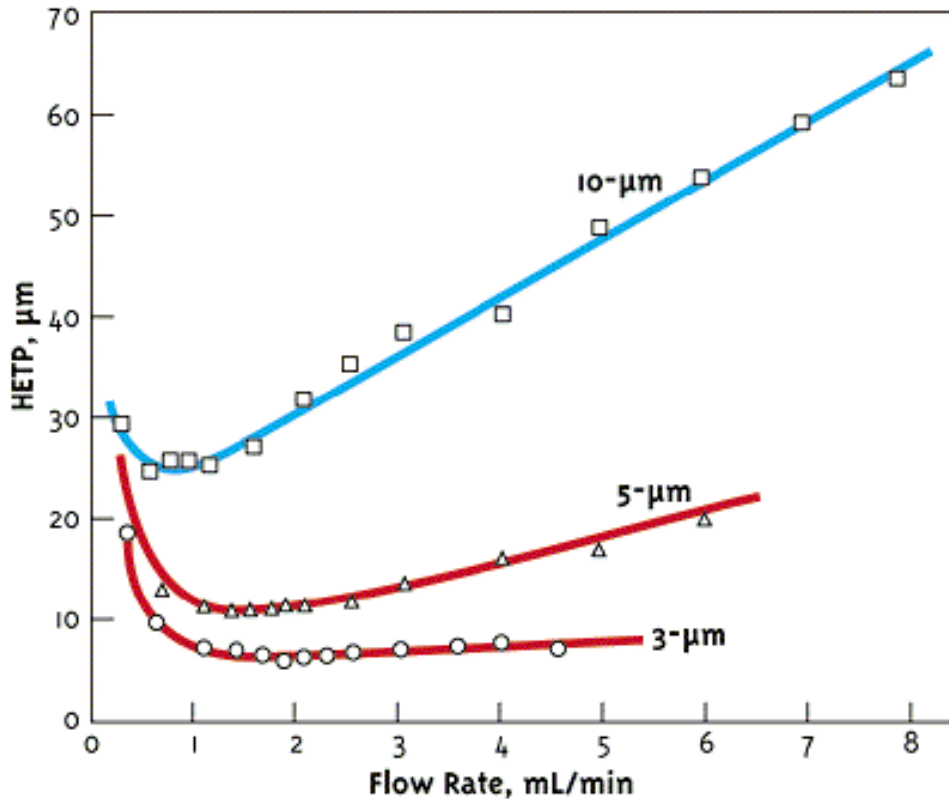
Επιλογή βέλτιστης ταχύτητας ροής κινητής φάσης



Van Deemter Equation

LC

$$H \propto C_e d_p + \frac{d_p^2 \gamma}{D_{MP}} \mu$$

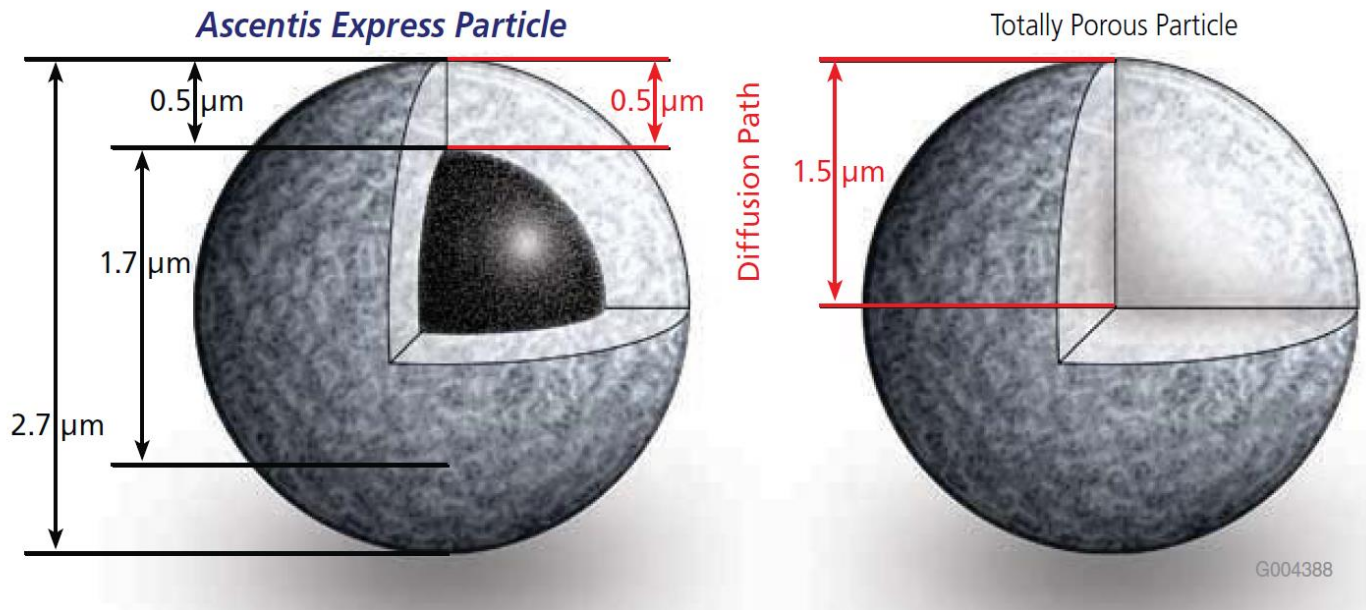


Dong, M. Today's Chemist at Work. 2000, 9(2), 46-48.

Van Deemter Equation

LC

$$H \propto C_e d_p + \frac{d_p^2 \gamma}{D_{MP}} \mu$$



Διαχωριστικότητα ή Διαχωριστότητα ή Διαχωριστική Ικανότητα (Resolution, R)

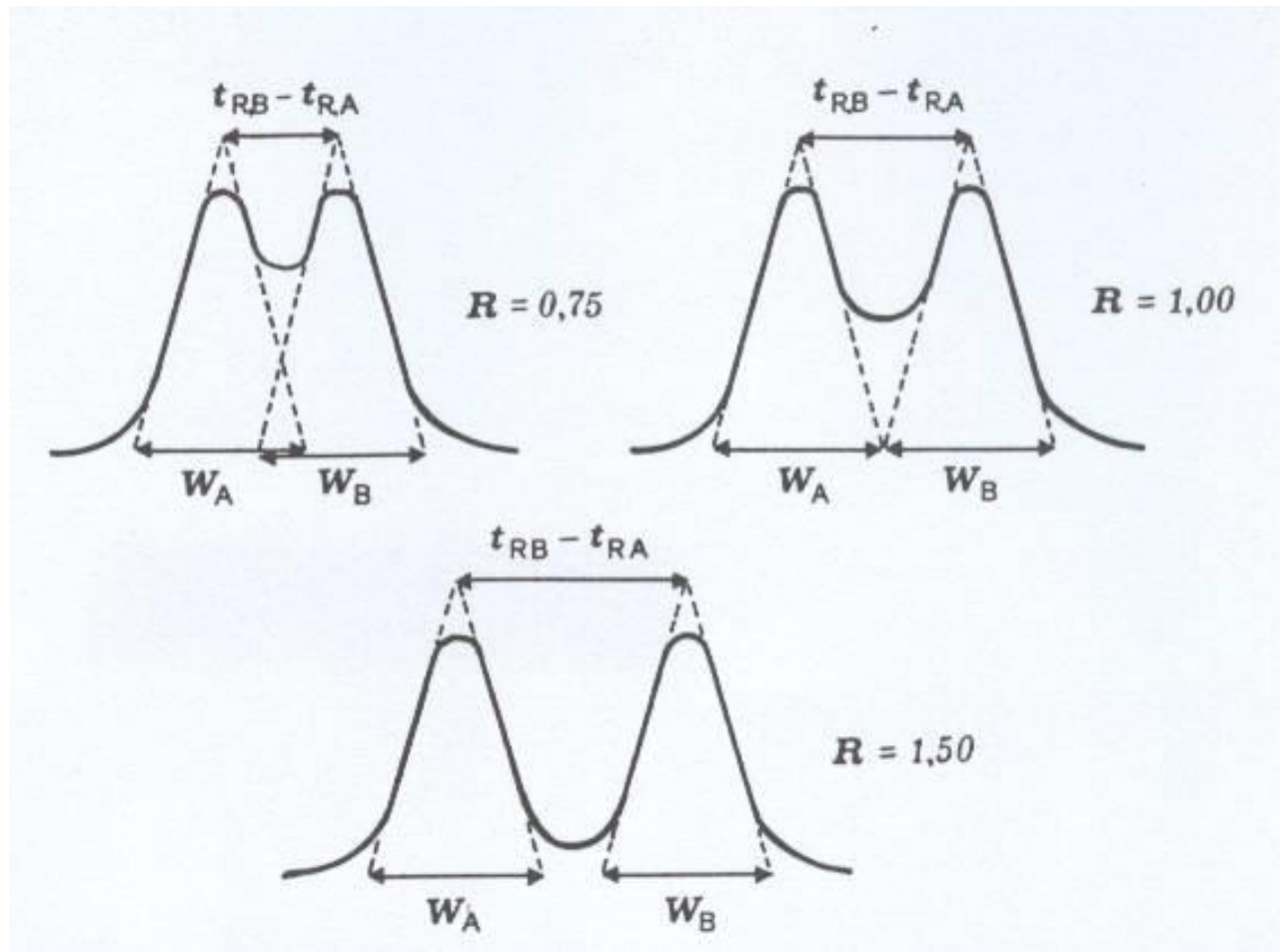
- Ο βαθμός διαχωρισμού δύο ουσιών A και B εμφανίζεται από το βαθμό αλληλεπικάλυψης των αντίστοιχών κορυφών
- Μέτρο διαχωρισμού η **διαχωριστικότητα (R ή R_s)**
- Εάν Δt_R η διαφορά χρόνων συγκράτησης ουσιών A και B:

$$R = \frac{\Delta t_R}{4\sigma} = \frac{t_{R,B} - t_{R,A}}{0,5(w_A + w_B)} = \frac{2(t_{R,B} - t_{R,A})}{w_A + w_B}$$

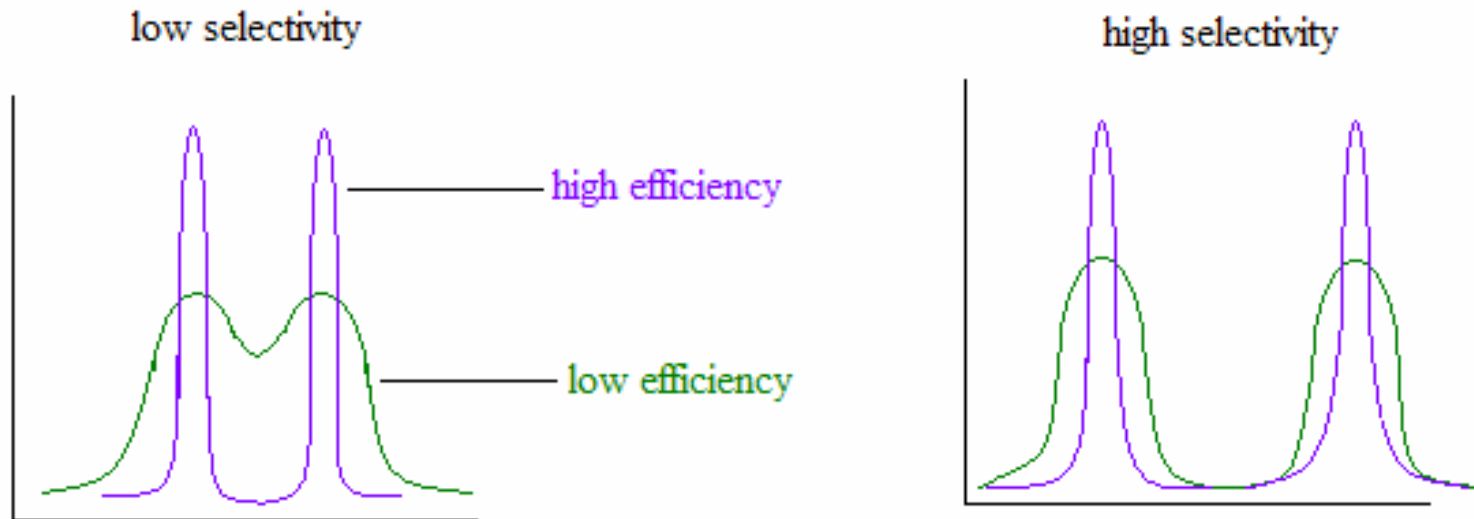
$$R = \frac{2(t_{R,B} - t_{R,A})}{1,699(w_{1/2,A} + w_{1/2,B})} = \frac{1,177(t_{R,B} - t_{R,A})}{w_{1/2,A} + w_{1/2,B}}$$

Δύο ισοϋψείς κορυφές για τρεις τιμές διαχωριστικότητας R .
Οι διακεκομμένες γραμμές είναι οι τριγωνικές προσεγγίσεις
χωριστών κορυφών.

Ο διαχωρισμός είναι πρακτικά πλήρης για $R \geq 1,5$



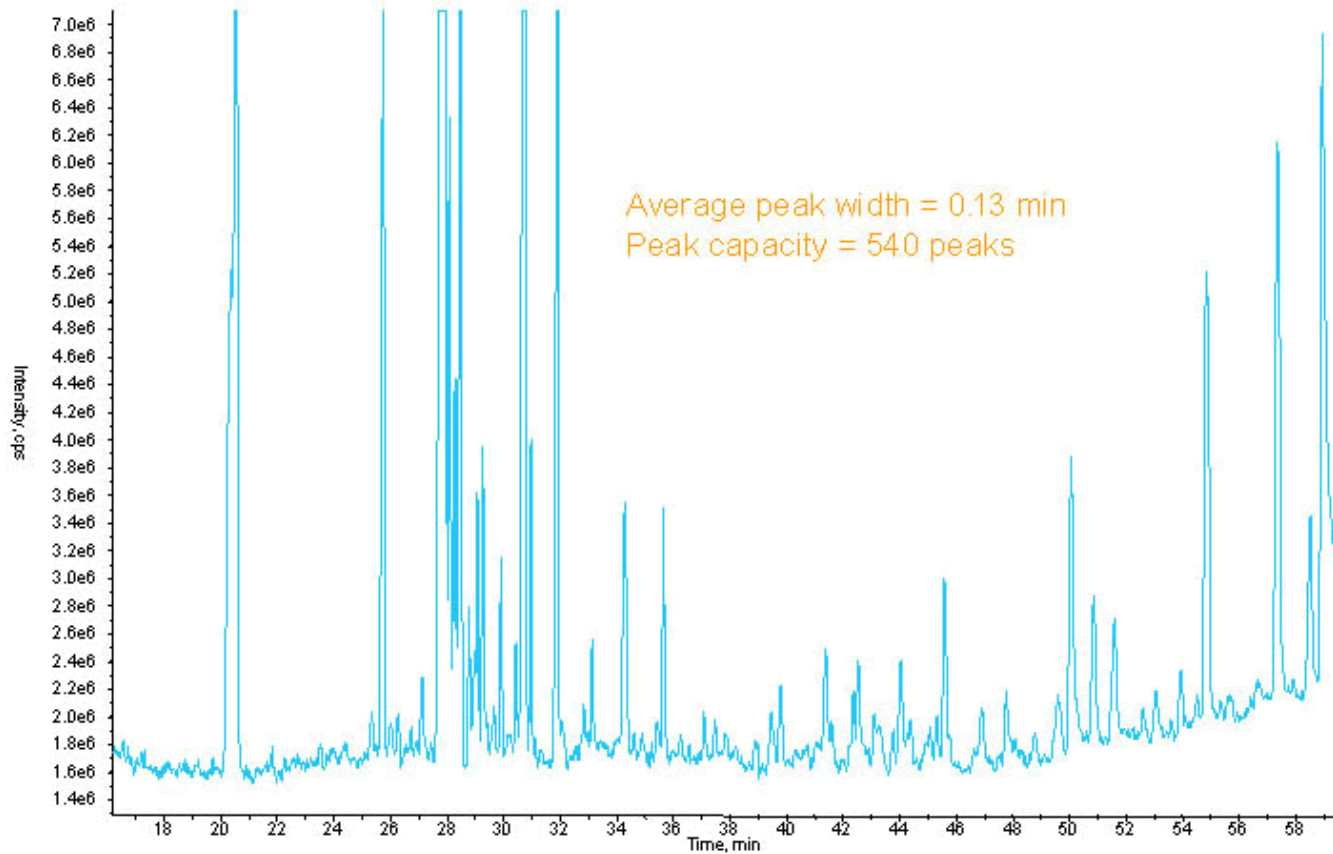
Διαχωριστικότητα και Εκλεκτικότητα



Ideally, the goal is to achieve both high efficiency and high selectivity so that the samples are adequately separated.

This is achieved in the blue peaks in the chromatogram on the left.

Υψηλής Διαχωριστικότητας Υγροχρωματογραφία



Εξάρτηση διαχωριστικότητας από αριθμό θεωρητικών πλακών και συντελεστές κατανομής

- Εάν $\alpha = K_B/K_A$ (σχετική συγκράτηση)
- N ο αποτελεσματικός αριθμός θεωρητικών πλακών (χρήση ανηγμένου χρόνου)
- k'_B ο παράγοντας χωρητικότητας ουσίας B (λόγος γραμμομορίων ουσίας στη στατική φάση προς γραμμομόρια στην κινητή φάση)

$$R = \left(\frac{\sqrt{N}}{4} \right) \left(\frac{a-1}{a} \right) \left(\frac{k'_B}{1+k'_B} \right)$$

Παράγοντας χωρητικότητας ή λόγος κατανομής
μάζας
Capacity factor

- Λόγος γραμμομορίων ουσίας στη στατική φάση προς γραμμομόρια στην κινητή φάση

$$k' = \frac{C_S V_S}{C_M V_M} = K \frac{V_S}{V_M}$$

Τρόποι αύξησης αριθμού θεωρητικών πλακών (n)

- Αύξηση μήκους L στήλης
- Ρύθμιση ταχύτητας ροής κινητής φάσης πλησίον της $u_{αρ}$
- Αλλαγή των παραμέτρων στήλης για τη μείωση των όρων A , B και C της εξίσωσης van Deemter
- Οι όροι α και k' είναι θερμοδυναμικές ιδιότητες και μπορούν να αλλάξουν με χρήση διαφορετικών στατικών και κινητών φάσεων ή αλλαγή θερμοκρασίας

Όροι και Σχέσεις για Επίλυση Προβλημάτων Χρωματογραφικών Τεχνικών (1)

$$t_R = t_M (1+k')$$

Για αδρανή ουσία που δεν αλληλεπιδρά με στατική φάση, $k' = 0$ και $t_R = t_M$

Με αφαίρεση του νεκρού χρόνου t_M , από το χρόνο συγκρατήσεως t_R , λαμβάνεται ο **ανηγμένος (προσαρμοσμένος) χρόνος συγκρατήσεως ή ανασχέσεως t'_R**

$$t'_R = t_R - t_M$$

Όροι και Σχέσεις για Επίλυση Προβλημάτων Χρωματογραφικών Τεχνικών (2)

Ομοίως ο ανηγμένος (προσαρμοσμένος)
όγκος συγκρατήσεως ή ανασχέσεως

$$V'_R = V_R - V_M$$

Σχετική συγκράτηση ή σχετική ανάσχεση ή
παράγοντας εκλεκτικότητας ή παράγοντας
διαχωριστικότητας α ή $r_{B/A}$:

$$\alpha = r_{B/A} = (t'_{R,B}/t'_{R,A}) = (V'_{R,B})/(V'_{R,A}) = K_B/K_A$$

Όροι και Σχέσεις για Επίλυση Προβλημάτων Χρωματογραφικών Τεχνικών (3)

Αποτελεσματικός αριθμός πλακών (effective plate number) N (με χρήση των ανηγμένων χρόνων και όγκων συγκράτησης) συνδέεται με θεωρητικό αριθμό θεωρητικών πλακών (n) με σχέση:

$$N = n \left(\frac{k'}{1 + k'} \right)^2$$

Όροι και Σχέσεις για Επίλυση Προβλημάτων Χρωματογραφικών Τεχνικών (4)

$$h = \frac{\sigma^2}{L}$$

$$v = \frac{L}{t_M}$$

$$k' = \frac{(t_R - t_M)}{t_M} = \frac{(V_R - V_M)}{V_M}$$

$$t_R = t_M \left(1 + K \frac{V_S}{V_M} \right)$$

$$t_{R,B} = \left(\frac{16R^2h}{v} \right) \left(\frac{\alpha}{(\alpha-1)} \right)^2 \left(\frac{1+k'_B}{k'_B} \right)^3$$